

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP05/001084

International filing date: 03 February 2005 (03.02.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: DE
Number: 10 2004 017 482.2
Filing date: 08 April 2004 (08.04.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 16 June 2005 (16.06.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 10 2004 017 482.2

Anmeldetag: 08. April 2004

Anmelder/Inhaber: Evotec Technologies GmbH,
40225 Düsseldorf/DE

Bezeichnung: Mikrofluidisches System mit einer Elektroden-
anordnung und zugehöriges Ansteuerungs-
verfahren

Priorität: 04. Februar 2004 EP 04001031
04. Februar 2004 EP 04001034
08. April 2004 DE 203 20 399.2

IPC: G 01 N 15/10

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 23. März 2005
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Schmidt C.

BESCHREIBUNG

- 5 Mikrofluidisches System mit einer Elektrodenanordnung und zugehöriges Ansteuerungsverfahren

Die Erfindung betrifft ein mikrofluidisches System, insbesondere in einem Zellsortierer, gemäß dem Oberbegriff des Anspruchs 1 sowie ein Ansteuerungsverfahren für eine Elektrodenanordnung in einem derartigen mikrofluidischen System gemäß dem Oberbegriff des Anspruchs 20.

Aus MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles", Biosensors & Bioelectronics 14 (1999) 247-256 ist ein mikrofluidisches System zur Untersuchung biologischer Zellen bekannt, bei dem die zu untersuchenden Zellen in einem Trägerstrom suspendiert sind und dielektrophoretisch manipuliert und sortiert werden. In dem Trägerstrom werden die zu untersuchenden Zellen zunächst durch eine trichterförmige dielektrophoretische Elektrodenanordnung (engl. "funnel") aufgereiht und anschließend in einem dielektrophoretischen Käfig (engl. "cage") festgehalten, um die in dem Käfig befindlichen Zellen im ruhenden Zustand untersuchen zu können, wozu mikroskopische, spektroskopische oder fluoreszenzoptische Messmethoden angewendet werden können. In Abhängigkeit von der Untersuchung der in dem dielektrophoretischen Käfig gefangenen Zellen können diese anschließend sortiert werden, wozu der Bediener eine Sortiereinrichtung (engl. "switch") ansteuert, die aus einer in dem Trägerstrom stromabwärts hinter dem dielektrophoretischen Käfig angeordneten dielektrophoretischen Elektrodenanordnung besteht. In diesem bekannten mikrofluidischen System sind in dem Trägerstromkanal also hintereinander mehrere Manipulati-

onseinrichtungen angeordnet, welche die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel manipulieren.

5 Nachteilig an dem bekannten mikrofluidischen System ist deshalb die Tatsache, dass in dem Trägerstromkanal eine Vielzahl von Elektroden angeordnet werden muss, um die verschiedenen Manipulationseinrichtungen (z.B. "funnel", "cage" und "switch") zu bilden.

10 Der Erfindung liegt deshalb die Aufgabe zugrunde, das vorstehend beschriebene bekannte mikrofluidische System zu vereinfachen.

15 Diese Aufgabe wird durch die Merkmale der nebengeordneten Ansprüche gelöst.

20 Die Erfindung umfasst die allgemeine technische Lehre, die Funktionen verschiedener Manipulationseinrichtungen in einer einzigen Elektrodenanordnung zu integrieren, so dass nicht jede Manipulationseinrichtung in dem Trägerstromkanal eine separate Elektrodenanordnung benötigt.

25 In dem Trägerstromkanal des erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems sind also vorzugsweise mindestens zwei Manipulationseinrichtungen (z.B. ein "cage" und ein "switch") angeordnet, wobei diese beiden Manipulationseinrichtungen eine gemeinsame Elektrodenanordnung aufweisen. Die gemeinsame Elektrodenanordnung der beiden Manipulationseinrichtungen kann zur Durchführung verschiedener Manipulationsfunktionen
30 angesteuert werden. Beispielsweise kann die gemeinsame Elektrodenanordnung so angesteuert werden, dass die in den Trägerstrom suspendierten Partikel in der als Feldekäfig geschalteten Elektrodenanordnung fixiert werden. Es ist jedoch alternativ auch möglich, dass die gemeinsame Elektrodenanordnung

so angesteuert wird, dass die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel in eine von mehreren Ausgangsleitungen sortiert werden.

5 In dem bevorzugten Ausführungsbeispiel sind in die gemeinsame Elektrodenanordnung also die Funktionen von zwei Manipulationseinrichtungen integriert, nämlich die Funktion eines Feldkäfigs und die Funktion einer Sortiereinrichtung bzw. einer Partikelweiche (engl. "switch"). Die Erfindung ist jedoch
10 hinsichtlich der Anzahl der in die gemeinsame Elektrodenanordnung zu integrierenden Manipulationsfunktionen nicht auf diese beiden Funktionen beschränkt. Es ist vielmehr auch möglich, andere Manipulationsfunktionen oder eine größere Anzahl von unterschiedlichen Manipulationsfunktionen in die gemeinsame Elektrodenanordnung zu integrieren. Insbesondere besteht
15 im Rahmen der Erfindung die Möglichkeit, drei verschiedene Manipulationseinrichtungen in eine gemeinsame Elektrodenanordnung zu integrieren, wobei es sich bei den drei Manipulationseinrichtungen beispielsweise um einen Feldkäfig (engl.
20 "cage"), eine Partikelweiche (engl. "switch") und eine Zentriereinrichtung (engl. "funnel") handeln kann. Der Aufbau und die Funktionsweise dieser Manipulationseinrichtungen ist in der bereits eingangs erwähnten Veröffentlichung von MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles" beschrieben, deren Inhalt
25 der vorliegenden Beschreibung in vollem Umfang zuzurechnen ist.

Der im Rahmen der Erfindung verwendete Begriff einer gemeinsamen Elektrodenanordnung ist vorzugsweise dahingehend zu
30 verstehen, dass die gemeinsame Elektrodenanordnung mindestens eine Elektrode aufweist, die Bestandteil mehrerer verschiedener Manipulationseinrichtungen ist.

Weiterhin ist zu erwähnen, dass die Elektrodenanordnung des erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems mehrere Elektroden aufweisen kann, die sich hinsichtlich ihrer Form, Länge und Breite unterscheiden können.

5

Bei der Integration eines dielektrophoretischen Feldkäfigs und einer dielektrophoretischen Partikelweiche in einer gemeinsamen Elektrodenanordnung ist die gemeinsame Elektrodenanordnung vorzugsweise in einem Verzweigungsbereich des Trägerstromkanals angeordnet, in dem sich der Trägerstromkanal in mehrere Ausgangsleitungen verzweigt. Bei dieser Anordnung kann die gemeinsame Elektrodenanordnung wahlweise als Partikelweiche oder als Feldkäfig geschaltet werden, was bei einer anderen Anordnung weiter stromaufwärts in dem Trägerstromkanal schwieriger wäre. Der im Rahmen der Erfindung verwendete Begriff eines Verzweigungsbereichs des Trägerstromkanals ist allgemein zu verstehen und nicht auf den Schnittpunkt der Ausgangsleitungen beschränkt, sondern umfasst beispielsweise auch die sogenannte "Separatrix", die dem geometrischen Schnittpunkt der Ausgangsleitung stromaufwärts vorgelagert ist.

10
15
20

25

30

In einem bevorzugten Ausführungsbeispiel der Erfindung verläuft in dem Trägerstromkanal eine Trennlinie, wobei die auf der einen Seite der Trennlinie befindlichen Partikel ohne eine Ansteuerung der Partikelweiche in die eine Ausgangsleitung strömen, während die auf der anderen Seite der Trennlinie befindlichen Partikel ohne eine Ansteuerung der Partikelweiche in die andere Ausgangsleitung strömen. Die auf die verschiedenen Ausgangsleitungen zu sortierenden Partikel müssen hierbei also lediglich auf eine Seite der Trennlinie gebracht werden und strömen dann selbständig in die vorgesehene Ausgangsleitung. Dies bietet den Vorteil, dass die Partikelweiche stromaufwärts vor dem Verzweigungsbereich der Ausgangs-

leitungen und insbesondere stromaufwärts vor dem geometrischen Schnittpunkt der Ausgangsleitungen angeordnet sein kann.

5 Bei der vorstehend erwähnten Trennlinie kann es sich um eine reale Trennwand handeln, die zwei Teilströme voneinander trennt, wobei die beiden Teilströme in jeweils eine bestimmte Ausgangsleitung strömen. Es ist jedoch alternativ auch möglich, dass die Trennlinie lediglich eine gedachte Linie bzw.
10 Fläche zwischen den beiden Teilströmen ist.

In einer Variante der Erfindung ist die Partikelweiche hierbei im Wesentlichen auf der Trennlinie angeordnet. Die Partikelweiche muss hierbei also stets aktiv angesteuert werden,
15 um den jeweiligen Partikel mit einer ausreichenden Sicherheit in die vorgesehene Ausgangsleitung zu befördern.

In einer anderen Variante der Erfindung ist die Partikelweiche dagegen bezüglich der Strömungsrichtung in dem Trägerstromkanal seitlich neben der Trennlinie angeordnet, wobei
20 die Partikel der Partikelweiche vorzugsweise durch eine stromaufwärts gelegene Zentriereinrichtung (engl. "funnel") zugeführt werden. Dies bietet den Vorteil, dass die Partikelweiche nur dann aktiv angesteuert werden muss, wenn ein Partikel über die Trennlinie hinaus abgelenkt werden soll, um in
25 die entsprechende Ausgangsleitung auf der gegenüberliegenden Seite der Trennlinie zu gelangen. Falls ein Partikel dagegen in die Ausgangsleitung auf der Seite der Partikelweiche strömen soll, ist hierbei keine aktive Ansteuerung der Partikelweiche erforderlich. Hierbei kann die Partikelweiche auf der
30 Seite der Trennlinie angeordnet sein, aus der die Ausgangsleitung für negativ selektierte Partikel (engl. "waste") abzweigt. Es ist jedoch alternativ auch möglich, dass die Partikelweiche auf der Seite der Trennlinie angeordnet ist, aus

der die Ausgangsleitung für positiv selektierte Partikel abzweigt.

5 In einem anderen Ausführungsbeispiel der Erfindung verzweigt der Trägerstromkanal ausgangsseitig nicht notwendigerweise in mehrere Ausgangsleitungen. Stattdessen verläuft hierbei neben dem Trägerstromkanal mindestens ein Nebenstromkanal, der von dem Trägerstromkanal vorzugsweise durch eine Trennwand getrennt ist, wobei sich in der Trennwand ein Durchbruch befindet, in dem die Partikelweiche angeordnet ist. In diesem Ausführungsbeispiel werden also nur die einzelnen Partikel sortiert, wohingegen die Trägerströme im Wesentlichen unbeeinflusst weiter fließen. Beispielsweise können seitlich neben dem Trägerstromkanal, der den Trägerstrom mit den darin suspendierten Partikeln führt, zwei Nebenstromkanäle verlaufen, so dass die Partikelweiche die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel wahlweise in einen der benachbarten Nebenstromkanäle befördern kann.

20 Es ist jedoch bei diesem Ausführungsbeispiel nicht zwingend erforderlich, dass zwischen dem Trägerstromkanal und dem Nebenstromkanal eine physische Trennwand verläuft. Es ist vielmehr auch möglich, dass der Trägerstromkanal lediglich durch eine gedachte Trennlinie bzw. Trennfläche von dem Nebenstromkanal getrennt ist, wobei die Trennung von Trägerstrom und Nebenstrom lediglich strömungsbedingt ist, weil Trägerstrom und Nebenstrom laminar nebeneinander strömen

30 In einem Ausführungsbeispiel der Erfindung weist die gemeinsame Elektrodenanordnung mindestens eine pfeilförmige Elektrode und mehrere Ablenkelektroden auf, wobei die pfeilförmige Elektrode entgegen der Strömungsrichtung des Trägerstroms ausgerichtet ist, während die Ablenkelektroden stromaufwärts vor der pfeilförmigen Elektrode angeordnet sind und an die

pfeilförmige Elektrode angrenzen. Beim Betrieb als die-
 elektrophoretische Partikelweiche wird die Pfeilelektrode
 hierbei permanent aktiviert, während das Umlenken in die ver-
 schiedenen Ausgangsleitungen durch Schalten der verschiedenen
 5 Ablenkelektroden erfolgt. Diese Anordnung einer dielektropho-
 retischen Partikelweiche wird auch als "Ultra Fast Sorter"
 (UFS) bezeichnet und ermöglicht eine schnelle Sortierung der
 suspendierten Partikel. Darüber hinaus lässt sich auch diese
 Elektrodenanordnung als Feldkäfig schalten, um die in dem
 10 Trägerstrom suspendierten Partikel zu fixieren.

In den bevorzugten Ausführungsbeispielen weist die gemeinsame
 Elektrodenanordnung sechs oder acht Elektroden auf, die ge-
 trennt ansteuerbar sind, um die gewünschte Manipulationsfunk-
 15 tion (z.B. Partikelfixierung oder Partikelsortierung) auszu-
 führen. Die Erfindung ist jedoch hinsichtlich der Anzahl der
 Elektroden der gemeinsamen Elektrodenanordnung nicht auf
 sechs oder acht Elektroden beschränkt, sondern grundsätzlich
 auch mit anderen Konfigurationen realisierbar.

In einem Ausführungsbeispiel der Erfindung besteht der Feld-
 käfig aus acht Elektroden, während die Zentriereinheit (engl.
 "funnel") vier Elektroden aufweist, wobei die vier stromauf-
 wärts gelegenen Elektroden des Feldkäfigs elektrisch mit je-
 25 weils einer der Elektroden der Zentriereinheit verbunden
 sind. Hierbei sind also ein Feldkäfig und eine Zentrierein-
 heit in eine gemeinsame Elektrodenanordnung integriert, wobei
 die Elektroden der Zentriereinrichtung gemeinsam mit den vier
 stromaufwärts gelegenen Elektroden des Feldkäfigs ansteuerbar
 30 sind.

Weiterhin ist zu erwähnen, dass das erfindungsgemäße mikro-
 fluidische System vorzugsweise eine erste Messstation auf-
 weist, welche die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel

stromaufwärts vor der gemeinsamen Elektrodenanordnung im strömenden Zustand untersucht.

Diese Untersuchung kann beispielsweise die Intensität einer Fluoreszenz, die Vitalität einer Zelle und/oder die Frage betreffen, ob es sich um eine einzelne Zelle oder ein Aggregat von mehreren Zellen handelt. Weiterhin kann bei dieser Untersuchung ermittelt werden, ob es sich um Zellen oder Material handelt, das in Form und Größe nicht Primärziel der näheren Untersuchung ist, zum Beispiel Verunreinigungen oder andere Zellen, sofern sie sich von den Vielzellen unterscheiden. Im Rahmen dieser Untersuchung kann beispielsweise eine Durchlichtmessung, eine Fluoreszenzmessung und/oder eine Impedanzspektroskopie erfolgen. Darüber hinaus ist es möglich, dass zunächst eine Durchlichtmessung und anschließend eine Fluoreszenzmessung erfolgt, wobei die Durchlichtmessung und die Fluoreszenzmessung vorzugsweise in räumlich getrennten Untersuchungsfenstern (engl. "region of interest") erfolgen. Die Durchlichtmessung kann beispielsweise die Unterscheidung zwischen lebenden und toten biologischen Zellen ermöglichen, während die Fluoreszenzmessung dazu verwendet werden kann, um zu untersuchen, ob die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel einen Fluoreszenzmarker tragen.

Falls im Rahmen der Voruntersuchung sowohl eine Durchlichtmessung als auch eine Fluoreszenzmessung in räumlich getrennten Untersuchungsfenstern erfolgt, so ist es vorteilhaft, wenn das Untersuchungsfenster für die Durchlichtmessung in dem Trägerstrom stromaufwärts vor dem Untersuchungsfenster für die Fluoreszenzmessung liegt. Es ist jedoch alternativ auch möglich, dass das Untersuchungsfenster für die Durchlichtmessung in dem Trägerstrom stromabwärts hinter dem Untersuchungsfenster für die Fluoreszenzmessung angeordnet ist.

Vorzugsweise wird im Rahmen der Untersuchung in der ersten Messstation ein optisches Bild aufgenommen, was eine digitale Bildauswertung zur Klassifizierung der Partikel ermöglicht.

Vorzugsweise werden die Partikel hierbei morphologisch untersucht, um beispielsweise eine einzelne biologische Zelle von einem Zellklumpen unterscheiden zu können. Der im Rahmen der vorliegenden Beschreibung verwendete Begriff eines optischen Bildes ist jedoch allgemein zu verstehen und nicht auf zweidimensionale Bilder im herkömmlichen Wortsinne beschränkt.

Vielmehr umfasst der Begriff eines optischen Bildes im Sinne der Erfindung auch eine punkt- oder linienförmige optische Abtastung des Trägerstroms bzw. der in dem Trägerstrom suspendierten Partikel. Beispielsweise kann die Helligkeit entlang einer Linie quer zum Trägerstromkanal aufintegriert werden, um einzelne Partikel zu detektieren und zu klassifizieren.

Die Unterscheidung lebender und toter Zellen im Rahmen der Untersuchung in der ersten Messstation kann bei einer Durchlichtmessung durch eine Auswertung der Intensitätsverteilung in dem aufgenommenen optischen Bild erfolgen. Ein spezielles Prinzip dieser Durchlichtmessung mit den erwähnten Eigenschaften ist beispielsweise die Phasenkontrast-Beleuchtung.

So weisen lebende biologische Zellen eine Ringstruktur mit einem in der Durchlichtmessung relativ hellen Rand und einem dunkleren Mittelpunkt auf, wohingegen tote biologische Zellen bei einer Durchlichtmessung eine annähernd einheitliche Helligkeit aufweisen und dunkel gegen den Hintergrund erscheinen.

Zusätzlich zu der Untersuchung der Partikel in der ersten Messstation erfolgt vorzugsweise eine weitere Messung in einer zweiten Messstation, welche die in dem Feldkäfig fixierten Partikel untersucht. Die Fixierung der Partikel während

der Untersuchung ist vorteilhaft, da auf diese Weise eine wesentlich genauere Untersuchung möglich ist.

Bei der Untersuchung in der zweiten Messstation können beispielsweise bestimmte Moleküle innerhalb einer Zelle lokalisiert werden. Beispielsweise können im Rahmen dieser Untersuchung Moleküle lokalisiert werden, die mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert sind.

Bei dem Fluoreszenzfarbstoff kann es sich beispielsweise um molekularbiologisch produzierte "Tags" von "Green Fluorescent Protein" und dessen Derivate, andere autofluoreszente Proteine handeln. Als Fluoreszenzfarbstoffe eignen sich jedoch auch solche Fluoreszenzfarbstoffe, die an ein zelluläres Molekül kovalent oder nicht-kovalent binden. Darüber hinaus können als Fluoreszenzfarbstoffe auch fluorogene Substanzen eingesetzt werden, die von zellulären Enzymen in fluoreszierende Produkte umgesetzt werden oder sogenannte FRET-Paare (Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer). Der Zustand der eingesetzten Fluoreszenzfarbstoffe kann beispielsweise anhand ihrer spektralen Eigenschaften oder durch Biolumineszenz unterschieden werden.

Anhand der Lokalisation von Molekülen innerhalb einer Zelle kann auch die Struktur und die Funktion der Moleküle ermittelt werden. Hierbei kann beispielsweise unterschieden werden nach dem Vorkommen in der Plasmamembran, im Zytosol, in den Mitochondrien, im Golgi-Apparat, in Endosomen, in Lysosomen, im Zellkern, im Spindelapparat, im Zyto-Skelett, Kolokalisation mit Aktin, Tubulin.

Ferner kann im Rahmen der Haupt- und/oder Voruntersuchung in der ersten bzw. zweiten Messstation die Morphologie einer Zelle bestimmt werden, wobei auch Farbstoffe eingesetzt wer-

den können. Darüber hinaus können im Rahmen der Haupt- und/oder Voruntersuchung auch zwei oder mehr Zustände einer Zellpopulation unterschieden werden.

- 5 Weiterhin ist es im Rahmen der Hauptuntersuchung in der zweiten Messstation möglich, ein zelluläres Signal anhand der Translokation eines fluoreszenzmarkierten Moleküls zu bestimmen, z.B. Rezeptoraktivierung gefolgt von Rezeptor-Internalisierung, Rezeptor-Aktivierung gefolgt von der Bindung von Arrestin, Rezeptor-Aggregation, Übergang eines Moleküls von der Plasmamembran ins Zytosol, vom Zytosol in die Plasmamembran, vom Zytosol in den Zellkern oder vom Zellkern ins Zytosol.
- 10
- 15 Ferner kann im Rahmen der Haupt- und/oder Voruntersuchung auch die Wechselwirkung zweier Moleküle bestimmt werden, wobei vorzugsweise mindestens eines der wechselwirkenden Moleküle einen Fluoreszenzmarker trägt und die Wechselwirkung z.B. durch kolokalisationsfreier Fluoreszenzfarben, ein FRET
- 20 oder eine Änderung der Fluoreszenz-Lebenszeit gezeigt wird.

Im Rahmen der Haupt- und/oder Voruntersuchung kann jedoch auch der Status einer Zelle innerhalb eines Zellzyklus bestimmt werden, wobei vorzugsweise die Morphologie der Zelle oder die Anfärbung des zellulären Chromatins ausgewertet wird.

25

Eine weitere Möglichkeit für die Haupt- und/oder Voruntersuchung besteht darin, das Membranpotential einer Zelle zu bestimmen, wobei vorzugsweise membranpotentialsensitive Farbstoffe eingesetzt werden. Vorzugsweise werden hierbei Farbstoffe verwendet die hinsichtlich des Plasmamembranpotentials und/oder des mitochondrialen Membranpotentials sensitiv sind.

30

Darüber hinaus kann im Rahmen der Haupt- und/oder Voruntersuchung auch die Vitalität einer Zelle ermittelt werden wobei vorzugsweise die Morphologie der Zelle ausgewertet wird und/oder fluorogene Substanzen eingesetzt werden, die zwischen lebenden und toten Zellen unterscheiden können.

Ferner können bei der Haupt- und/oder Voruntersuchung auch zytotoxische Effekte untersucht und/oder der intrazelluläre pH-Wert bestimmt werden.

Es ist auch möglich, im Rahmen der Haupt- und/oder Voruntersuchung die Konzentration eines oder mehrerer Ionen innerhalb einer Zelle zu bestimmen.

Auch kann bei der Haupt- und/oder Voruntersuchung eine enzymatische Aktivität innerhalb einer Zelle ermittelt werden, wobei vorzugsweise fluorogene oder chromogene Substanzen, insbesondere Kinasen, Phosphatasen oder Proteasen, eingesetzt werden können.

Ferner kann bei der Haupt- und/oder Voruntersuchung die Produktionsleistung von Zellen bestimmt werden, die biologische Produkte erzeugen, wie beispielsweise Proteine, Peptide, Antikörper, Kohlenhydrate oder Fette, wobei eine der beschriebenen Methoden angewendet werden kann.

Schließlich können im Rahmen der Hauptuntersuchung in der zweiten Messstation auch Zell-Stresspfade, metabolische Pfade, Zellwachstumspfade, Zellteilungspfade und andere Signaltransduktionspfade bestimmt werden.

Die Erfindung ist jedoch nicht auf das vorstehend beschriebene erfindungsgemäße mikrofluidische System als Einzelteil beschränkt, sondern umfasst auch ein Gerät, insbesondere einen

Zellsortierer mit einem derartigen mikrofluidischen System als Bauteil. Ferner umfasst die Erfindung auch ein Ansteuerungsverfahren zur elektrischen Ansteuerung der gemeinsamen Elektroden entsprechend der gewünschten Manipulationsfunktion. Weiterhin ist zu erwähnen, dass der im Rahmen der Erfindung verwendete Begriff eines Partikels allgemein zu verstehen ist und nicht auf einzelne biologische Zellen beschränkt ist. Vielmehr umfasst dieser Begriff auch synthetische oder biologische Partikel wobei sich besondere Vorteile ergeben, wenn die Partikel biologische Materialien, also beispielsweise biologische Zellen, Zellgruppen, Zellbestandteile oder biologisch relevante Makromoleküle, jeweils ggf. im Verbund mit anderen biologischen Partikeln oder synthetischen Trägerpartikeln umfassen. Synthetische Partikel können feste Partikel, flüssige, vom Suspensionsmedium abgegrenzte Teilchen oder Mehrphasenpartikel umfassen, die gegenüber dem Suspensionsmedium in dem Trägerstrom eine getrennte Phase bilden.

Andere vorteilhafte Weiterbildungen der Erfindung sind in den Unteransprüchen gekennzeichnet oder werden nachstehend zusammen mit der Beschreibung der bevorzugten Ausführungsbeispiele der Erfindung anhand der Figuren näher erläutert. Es zeigen:

- Figur 1 eine schematische Darstellung eines erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems,
- Figur 2 ein weiteres Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems,
- Figur 3 ein anderes alternatives Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems mit einer gemeinsamen Elektrodenanordnung,
- Figur 4 ein alternatives Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems, bei dem die Sortiereinrichtung stromaufwärts vor dem Verzweigungsbereich angeordnet ist,

Figur 5 ein weiteres Ausführungsbeispiel eines mikrofluidischen Systems, bei dem die Sortiereinrichtung in dem Trägerstromkanal außermittig angeordnet ist,

Figur 6 ein erfindungsgemäßes mikrofluidisches System mit drei Ausgangsleitungen,

Figur 7 ein Ausführungsbeispiel eines mikrofluidischen Systems mit einem mittigen Trägerstromkanal, der von zwei Nebenstromkanälen benachbart ist,

Figur 8 ein weiteres erfindungsgemäßes Ausführungsbeispiel mit einer Elektrodenanordnung, welche die Funktion eines Feldkäfigs und einer Zentriereinrichtung integriert,

Figur 9 ein Ausführungsbeispiel einer gemeinsamen Elektrodenanordnung, welche die Funktion eines Feldkäfigs und einer Zentriereinrichtung integriert,

Figur 10 eine schematische Darstellung einer erfindungsgemäßen Elektrodenanordnung sowie

Figur 11 ein weiteres Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems.

Die schematische Darstellung in Figur 1 zeigt ein mikrofluidisches System mit einem Trägerstromkanal 1 zur Zuführung eines Trägerstroms mit darin suspendierten Partikeln 2.

In dem Trägerstromkanal 1 ist eine dielektrophoretische Elektrodenanordnung 3 angeordnet, welche die Partikel 2 in dem Trägerstrom zentriert und in Strömungsrichtung hintereinander aufreiht. Der Aufbau und die Funktionsweise der Elektrodenanordnung 3 ist beispielsweise in der bereits eingangs erwähnten Veröffentlichung von MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles" beschrieben, wo die Elektrodenanordnung 3 als "Funnel" bezeichnet wird. Der Inhalt dieser Veröffentlichung ist deshalb der vorliegenden Beschreibung hinsichtlich des

Aufbaus und der Funktionsweise der Elektrodenanordnung 3 in vollem Umfang zuzurechnen.

5 Stromabwärts hinter der Elektrodenanordnung 3 befindet sich in dem Trägerstromkanal 1 eine weitere dielektrophoretische Elektrodenanordnung 4, die es ermöglicht, die Partikel 2 vorübergehend zu parken. Der Aufbau und die Funktionsweise der Elektrodenanordnung 4 ist beispielsweise in MÜLLER, T. et al.: "Life cells in cellprocessors" (Bioworld, 2-2002) be-
10 schrieben, wo die Elektrodenanordnung 4 als "Hook" bezeichnet wird. Der Inhalt dieser Veröffentlichung ist deshalb hinsichtlich des Aufbaus und der Funktionsweise der Elektrodenanordnung 4 der vorliegenden Beschreibung in vollem Umfang zuzurechnen, so dass an dieser Stelle auf eine detaillierte
15 Beschreibung der Elektrodenanordnung 4 verzichtet werden kann.

Stromabwärts hinter der Elektrodenanordnung 4 verzweigt der Trägerstromkanal 1 in zwei Ausgangsleitungen 5, 6, wobei in
20 dem Verzweigungsbereich eine weitere Elektrodenanordnung 7 angeordnet ist, die wahlweise als dielektrophoretischer Feldkäfig oder als Partikelweiche angesteuert werden kann. Hinsichtlich des Aufbaus und der Ansteuerung der Elektrodenanordnung 7 als Partikelweiche oder als Feldkäfig wird auf die bereits eingangs erwähnte Veröffentlichung von MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging
25 single cells and particles" verwiesen, deren Inhalt der vorliegenden Beschreibung hinsichtlich der Gestaltung der Elektrodenanordnung 7 in vollem Umfang zuzurechnen ist. Die Elektrodenanordnung 7 vereinigt hierbei also die Funktionen zweier im Stand der Technik getrennter Manipulationseinrichtungen, nämlich zum einen die Funktion eines dielektrophoretischen Feldkäfigs (engl. "cage") und zum anderen die Funktion einer Partikelweiche (engl. "switch"). Zur Auswahl der ge-
30

wünschten Funktion der Elektrodenanordnung 7 müssen die einzelnen Elektroden der Elektrodenanordnung 7 lediglich entsprechend angesteuert werden, was an sich aus der bereits eingangs erwähnten Veröffentlichung von MÜLLER, T. et al. bekannt ist.

In dem Trägerstromkanal 1 befindet sich zwischen den Elektrodenanordnungen 4 und 7 eine erste Messstation 8, die eine Voruntersuchung der in dem Trägerstrom suspendierten Partikel 2 durchführt, wobei die Voruntersuchung in der eingangs beschriebenen Weise erfolgen kann.

In Abhängigkeit von dem Ergebnis der Voruntersuchung wird die Elektrodenanordnung 7 dann entweder als Feldkäfig oder als Partikelweiche geschaltet. Falls das Ergebnis der Untersuchung in der Messstation 8 beispielsweise ergibt, dass der untersuchte Partikel 2 nicht weiter interessiert, so wird dieser Partikel 2 in die Ausgangsleitung 5 für nicht interessierende Partikel befördert. Falls die Untersuchung in der Messstation 8 dagegen ergibt, dass der Partikel 2 den Messkriterien der Voruntersuchung genügt, so wird die Elektrodenanordnung 7 als Feldkäfig geschaltet, so dass der Partikel 2 anschließend im fixierten Zustand in der Elektrodenanordnung 7 durch eine zweite Messstation 9 untersucht werden kann, wobei die zweite Messstation 9 eine detaillierte Untersuchung des Partikels 2 vornimmt, wie bereits eingangs beschrieben wurde.

Weiterhin ist in der Ausgangsleitung 6 für positiv selektierte Partikel 2 eine Elektrodenanordnung 10 angeordnet, welche die Partikel 2 in der Ausgangsleitung 6 zentriert und dadurch ein Absinken der Partikel 2 in der Ausgangsleitung 6 verhindert.

Schließlich ist noch zu erwähnen, dass in die Ausgangsleitung 6 zwei Hüllstromleitungen 11, 12 münden, was an sich ebenfalls bekannt ist.

5 Das in Figur 2 dargestellte alternative Ausführungsbeispiel stimmt weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 1 dargestellten Ausführungsbeispiel überein, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen auf die vorstehende Beschreibung verwiesen wird, wobei für entsprechende Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet werden.

10 Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass die Elektrodenanordnung 7 hierbei lediglich sechs räumlich angeordnete Elektroden aufweist, die jedoch ebenfalls wahlweise als Feldkäfig oder als Partikelweiche schaltbar sind.

Schließlich stimmt auch das in Figur 3 dargestellte alternative Ausführungsbeispiel weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 1 dargestellten Ausführungsbeispiel überein, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen weitgehend auf die vorstehende Beschreibung zu Figur 1 verwiesen wird, wobei für entsprechende Bauteile im Folgenden dieselben Bezugszeichen verwendet werden.

25

Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass die Elektrodenanordnung 7 hierbei eine Pfeilelektrode 13 aufweist, die entgegen der Strömungsrichtung ausgerichtet ist und permanent angesteuert wird, wobei an die Pfeilelektrode 13 zwei Ablenkelektroden angrenzen, die zur Ablenkung in die gewünschte Ausgangsleitung 5 bzw. 6 jeweils einzeln angesteuert werden. Diese Konfiguration wird auch als "Ultra Fast Sorter" (UFS) bezeichnet und ermöglicht eine schnelle Sortierung der suspendierten Partikel 2.

Das in Figur 4 dargestellte Ausführungsbeispiel stimmt weitgehend mit den vorstehend beschriebenen Ausführungsbeispielen überein, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen weitgehend auf die vorstehende Beschreibung verwiesen wird, wobei für entsprechende Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet werden und nur die Besonderheiten dieses Ausführungsbeispiels beschrieben werden.

Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass die Elektrodenanordnung 7 in dem Trägerstromkanal 1 stromaufwärts vor dem Verzweigungsbereich der beiden Ausgangsleitungen 5, 6 angeordnet ist. In dem Trägerstromkanal 1 verläuft hierbei mittig eine flächige Trennlinie 14, wobei in der Zeichnung schwarz dargestellte Partikel 15 in die Ausgangsleitung 5 für negativ selektierte Partikel strömen, wohingegen in der Zeichnung in einer Umrisslinie dargestellte Partikel 16 in die andere Ausgangsleitung 6 für positiv selektierte Partikel strömen. Die Trennlinie 14 wird auch als Separatrix bezeichnet und trennt in dem Trägerstromkanal 1 zwei Teilströme, die ohne eine Ansteuerung der Elektrodenanordnung 7 als Partikelweiche in die jeweils zugehörige obere bzw. untere Ausgangsleitung 5 bzw. 6 strömen. Zur Erreichung einer definierten Sortierung der Partikel 15, 16 auf die beiden Ausgangsleitungen 5, 6 muss die gemeinsame Elektrodenanordnung 7 also hierbei stets als Partikelweiche aktiv angesteuert werden.

Das in Figur 5 dargestellte alternative Ausführungsbeispiel eines mikrofluidischen Systems stimmt weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 4 dargestellten Ausführungsbeispiel überein, so dass weitgehend auf die vorstehende Beschreibung verwiesen wird und im Folgenden für entsprechende Bauteile die selben Bezugszeichen verwendet werden.

Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass die wahlweise als Partikelweiche oder als Feldkäfig ansteuerbare gemeinsame Elektrodenanordnung 7 in dem Trägerstromkanal 1 außermittig angeordnet ist. Dies bedeutet, dass sich die Elektrodenanordnung 7 bezüglich der Strömungsrichtung in dem Trägerstromkanal 1 seitlich neben der Trennlinie 14 auf der Seite der Ausgangsleitung 6 befindet. Dies bedeutet, dass die Partikel 15, 16 selbständig in die Ausgangsleitung 6 strömen, wenn die Elektrodenanordnung 7 nicht aktiv als Partikelweiche angesteuert wird, um die Partikel 15 über die Trennlinie 14 hinaus auf die andere Seite des Trägerstromkanals 1 abzulenken. Dieses Ausführungsbeispiel ist deshalb dann vorteilhaft, wenn der Anteil der negativ zu selektierenden Partikel 15 wesentlich kleiner ist als der Anteil der positiv zu selektierenden Partikel 16, da nur zum Aussortieren der relativ geringen Anzahl der negativ zu selektierenden Partikel 15 eine Ansteuerung der Elektrodenanordnung 7 erforderlich ist.

Figur 6 zeigt ein weiteres Ausführungsbeispiel eines mikrofluidischen Systems mit einem Trägerstromkanal 17 zur Zuführung eines Trägerstroms mit darin suspendierten Partikeln 18, 19, 20, wobei sich die Partikel 18, 19, 20 unterscheiden, was in der Zeichnung durch die unterschiedliche grafische Darstellung der Partikel 18, 19, 20 angedeutet ist.

Der Trägerstromkanal 17 verzweigt stromabwärts in drei Ausgangsleitungen 21, 22, 23 zur Aufnahme und Abführung der verschiedenen Partikel 18, 19, 20. Die Ausgangsleitung 21 dient hierbei zur Aufnahme der schwarz gezeichneten Partikel 20, während die Ausgangsleitung 22 zur Abführung der schraffiert dargestellten Partikel 19 dient, wohingegen die Ausgangslei-

tung 23 die als Umrisslinie gezeichneten Partikel 18 aufnimmt und abführt.

In dem Trägerstromkanal 17 verlaufen hierbei zwei flächige
5 Trennlinien 24, 25, die in dem Trägerstromkanal 17 drei Teilströme abgrenzen.

Die in dem oberen Teilstrom oberhalb der Trennlinie 24 suspendierten Partikel gelangen hierbei selbständig in die Ausgangsleitung 21, sofern diese Partikel nicht aktiv abgelenkt werden, wie im Folgenden noch detailliert beschrieben wird.
10

Die Partikel, die in dem Trägerstrom zwischen den beiden Trennlinien 24, 25 suspendiert sind, gelangen dagegen ohne
15 eine externe Ablenkung selbständig in die Ausgangsleitung 22.

Ferner strömen die in dem Trägerstrom unterhalb der Trennlinie 25 suspendierten Partikel selbständig in die Ausgangsleitung 23, sofern diese Partikel nicht aktiv abgelenkt werden, wie noch detailliert beschrieben wird.
20

In dem Trägerstromkanal 17 befindet sich stromaufwärts zunächst eine Zentriereinrichtung 26, welche die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel 18, 19, 20 auf der Trennlinie 25 aufreht und einer nachfolgenden Elektrodenanordnung 27 zuführt. Die Elektrodenanordnung 27 vereinigt die Funktion eines Feldkäfigs mit der Funktion einer Ablenkeinrichtung (engl. "switch").
25

Bei einer Ansteuerung als Feldkäfig kann die Elektrodenanordnung 27 die Partikel 18, 19 bzw. 20 fixieren, damit die Partikel 18, 19 bzw. 20 von einer Messstation untersucht werden, die zur Vereinfachung nicht dargestellt ist.
30

Bei einer Ansteuerung als Partikelweiche bzw. Ablenkeinrichtung kann die Elektrodenanordnung 27 die Partikel 18, 19 bzw. 20 dagegen in Abhängigkeit von dem Ergebnis der vorangegangenen Untersuchung in der Messstation entweder geradeaus weiter
 5 strömen lassen oder seitlich in den Teilstrom zwischen den beiden Trennlinien 24, 25 ablenken.

Stromabwärts hinter der Elektrodenanordnung 27 befindet sich eine weitere Zentriereinrichtung 28, die in dem Trägerstromkanal 17 außermittig angeordnet ist und die in den beiden
 10 Teilströmen beiderseits der Trennlinie 24 suspendierten Partikel auf der Trennlinie 24 aufreiht und einer weiteren Elektrodenanordnung 29 zuführt, die wahlweise als Feldkäfig oder als Partikelweiche ansteuerbar ist.

Bei einer Ansteuerung der Elektrodenanordnung 29 als Feldkäfig kann die Elektrodenanordnung 29 die Partikel 19 bzw. 20 fixieren, damit diese durch eine Messstation untersucht werden können, die zur Vereinfachung nicht dargestellt ist.

Bei einer Ansteuerung als Partikelweiche kann die Elektrodenanordnung die Partikel wahlweise in den oberhalb der Trennlinie 24 befindlichen Teilstrom oder in den unterhalb der
 20 Trennlinie 24 befindlichen Teilstrom ablenken, damit die Partikel in die gewünschte Ausgangsleitung 21 bzw. 22 strömen.
 25 Die Ansteuerung der Elektrodenanordnung 29 als Partikelweiche zur Sortierung der Partikel auf die beiden Ausgangsleitungen 21, 22 erfolgt hierbei in Abhängigkeit von dem Ergebnis der vorangegangenen Untersuchung der nicht dargestellten Messsta-
 30 tion.

Figur 7 zeigt ein weiteres Ausführungsbeispiel eines mikrofluidischen Systems mit einem Trägerstromkanal 30 und zwei benachbarten Nebenstromkanälen 31, 32, wobei die beiden Ne-

benstromkanäle 31, 32 von dem Trägerstromkanal 30 durch jeweils eine Trennwand 33, 34 getrennt sind.

Über den Trägerstromkanal 30 werden dem mikrofluidischen System hierbei suspendierte Partikel 35, 36, 37 zugeführt, wobei sich die Partikel 35, 36, 37 unterscheiden und entsprechend auf die beiden Nebenstromkanäle 31, 32 oder auf den weiterführenden Trägerstromkanal 30 verteilt werden.

In dem Trägerstromkanal 30 befindet sich an dessen stromaufwärts gelegenen Ende zunächst eine Elektrodenanordnung 38, um die Partikel 35, 36, 37 in dem Trägerstromkanal 30 mittig aufzureihen.

Stromabwärts hinter der Elektrodenanordnung 38 weisen die Trennwände 33, 34 jeweils einen Durchbruch auf, durch den die Partikel 36, 37 in die benachbarten Nebenstromkanäle 31, 32 abgelenkt werden können. Hierzu ist im Bereich der Durchbrüche eine Elektrodenanordnung angeordnet, die wahlweise als Feldekäfig oder als Partikelweiche ansteuerbar ist, wobei die gemeinsame Elektrodenanordnung aus acht Elektroden besteht, von denen hier nur vier Elektroden 39, 40, 41, 42 erkennbar sind.

Bei einer Ansteuerung der gemeinsamen Elektrodenanordnung als Feldekäfig können die Partikel 35, 36 bzw. 37 in dem Feldekäfig fixiert werden, um eine detaillierte Untersuchung durch eine Messstation zu ermöglichen, die zur Vereinfachung nicht dargestellt ist.

In Abhängigkeit von dem Ergebnis dieser Untersuchung kann die gemeinsame Elektrodenanordnung dann als Partikelweiche angesteuert werden, um die Partikel 37 in den Nebenstromkanal 31

zu befördern und die Partikel 36 in den Nebenstromkanal 32 abzulenken.

Das in Figur 8 dargestellte Ausführungsbeispiel eines mikrofluidischen Systems stimmt weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 4 dargestellten Ausführungsbeispiel überein, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen weitgehend auf die vorstehende Beschreibung verwiesen wird und für entsprechende Bauteile die selben Bezugszeichen verwendet werden.

Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass die Funktionen der Elektrodenanordnungen 3 und 7 in Figur 4 bei diesem Ausführungsbeispiel in einer einzigen Elektrodenanordnung 43 integriert sind, wobei die Elektrodenanordnung 43 wahlweise als Zentriereinrichtung (engl. "funnel"), als Feldkäfig (engl. "field cage") oder als Partikelweiche (engl. "switch") ansteuerbar ist.

Die Elektrodenanordnung 43 weist hierbei Elektroden auf, die in Strömungsrichtung aufeinander zulaufen, wobei die Endspitzen dieses Elektroden halbkreisförmig geformt sind. Mit Hilfe dieser besonderen Gestaltung kann die Elektrodenanordnung 43 auch Partikel halten.

Ferner zeigt Figur 9 eine schematische Darstellung einer gemeinsamen Elektrodenanordnung, die wahlweise als Zentriereinrichtung oder als Feldkäfig ansteuerbar ist. Hierzu weist die Elektrodenanordnung acht quaderförmig angeordnete Käfigelektroden auf, wobei in der Aufsicht nur vier Käfigelektroden 44, 45, 46, 47 erkennbar sind.

Weiterhin sind hierbei vier herkömmlich angeordnete Ablenkelektroden vorgesehen, wobei in der Aufsicht nur zwei Ablenkelektroden 48, 49 erkennbar sind.

- 5 Die stromaufwärts gelegenen Käfigelektroden 45, 47 sind hierbei mit jeweils einer der beiden Ablenkelektroden 48, 49 elektrisch verbunden und gemeinsam mit diesen ansteuerbar.

10 Schließlich zeigt Figur 10 eine schematische Darstellung der geometrischen Anordnung von acht Käfigelektroden 50, 50', 51, 51', 52, 52', 53, 53', wobei die Strömungsrichtung hierbei in Y-Richtung verläuft.

15 Die elektrische Ansteuerung der einzelnen Käfigelektroden 50, 50', 51, 51', 52, 52', 53, 53' ist beispielsweise in der bereits eingangs erwähnten Veröffentlichung von MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles" beschrieben, deren Inhalt der vorliegenden Beschreibung in vollem Umfang zuzurechnen ist.

20

Um einen gefangenen Partikel in Y-Richtung zu entlassen, werden die Käfigelektroden 52, 52', 53, 53' hinreichend geschwächt, was beispielsweise durch Ausschalten dieser Käfigelektroden erfolgen kann. Analoges gilt für die X- bzw. Y-Richtung. Eine Schwächung der Elektroden 52, 52' führt zu einem Entweichen des gefangenen Partikels in XY-Richtung (1,1,0-Richtung). Wird dagegen nur die Elektrode 52' geschwächt, so verlässt der gefangene Partikel den Feldkäfig in 1,1,1-Richtung. Ein besonders schnelles Partikelentweichen (Katapultmodus) kann dadurch erreicht werden, dass an mindestens einer weiteren Elektrode (z.B. der gegenüberliegenden Elektrode) die Spannung erhöht und/oder die Phasenlage geändert wird.

25

30

Schließlich zeigt Figur 11 ein weiteres Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems, wobei in Pfeilrichtung ein Trägerstrom mit darin suspendierten Partikel strömt.

5

Im stromaufwärts gelegenen Bereich des mikrofluidischen Systems sind zunächst mehrere trichterförmig angeordneten Elektroden 54, 55 angeordnet, welche die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel auf einer Mittellinie 56 zentrieren.

10

Stromabwärts hinter den Elektroden 54, 55 befindet sich eine Elektrodenanordnung 57, die zum Fangen der Partikel und zum schnellen Schalten in zwei Strömungspfade dient. Die Elektrodenanordnung 57 weist an ihrem stromaufwärts gelegenen Ende einen Feldkäfig auf, der aus mehreren Elektroden 58-61 besteht. Weiterhin weist die Elektrodenanordnung 57 beiderseits der Mittellinie 56 mehrere Ablenkelektroden 62, 63 auf, welche die Partikel bei einer entsprechenden Ansteuerung in einen von zwei Strömungspfaden ablenken. Die Ablenkelektroden 62, 63 sind hierbei galvanisch mit den Elektroden 58, 61 des Feldkäfigs verbunden.

20

Die Erfindung ist nicht auf die vorstehend beschriebenen bevorzugten Ausführungsbeispiele beschränkt. Vielmehr ist eine Vielzahl von Varianten und Abwandlungen möglich, die ebenfalls von dem Erfindungsgedanken Gebrauch machen und deshalb in den Schutzbereich fallen.

25

16330

Bezugszeichenliste:

1	Trägerstromkanal	44	Käfigelektrode
2	Partikel	45	Käfigelektrode
3	Elektrodenanordnung	46	Käfigelektrode
4	Elektrodenanordnung	47	Käfigelektrode
5	Ausgangsleitung	48	Ablenkelektrode
6	Ausgangsleitung	49	Ablenkelektrode
7	Elektrodenanordnung	50, 50'	Käfigelektrode
8	Messstation	51, 51'	Käfigelektrode
9	Messstation	52, 52'	Käfigelektrode
10	Elektrodenanordnung	53, 53'	Käfigelektrode
11	Hüllstromleitung	54, 55	Elektroden
12	Hüllstromleitung	56	Mittellinie
13	Pfeilelektrode	57	Elektrodenanordnung
14	Trennlinie	58-61	Elektroden
15	Partikel	62, 63	Ablenkelektroden
16	Partikel		
17	Trägerstromkanal		
18	Partikel		
19	Partikel		
20	Partikel		
21	Ausgangsleitung		
22	Ausgangsleitung		
23	Ausgangsleitung		
24	Trennlinie		
25	Trennlinie		
26	Zentriereinrichtung		
27	Elektrodenanordnung		
28	Zentriereinrichtung		
29	Elektrodenanordnung		
30	Trägerstromkanal		
31	Nebenstromkanal		
32	Nebenstromkanal		
33	Trennwand		
34	Trennwand		
35	Partikel		
36	Partikel		
37	Partikel		
38	Elektrodenanordnung		
39	Elektrode		
40	Elektrode		
41	Elektrode		
42	Elektrode		
43	Elektrodenanordnung		

ANSPRÜCHE

5

1. Mikrofluidisches System, insbesondere in einem Partikelsortierer, mit

- einem Trägerstromkanal (1) zur Zuführung eines Trägerstroms mit darin suspendierten Partikeln (2),
- 10 - einer in dem Trägerstromkanal (1) angeordneten ersten Manipulationseinrichtung zur Manipulation der in dem Trägerstrom suspendierten Partikel (2),
- einer in dem Trägerstromkanal (1) angeordneten zweiten Manipulationseinrichtung zur Manipulation der in dem Träger-
- 15 strom suspendierten Partikel (2),

dadurch gekennzeichnet, dass

die erste Manipulationseinrichtung und die zweite Manipulationseinrichtung eine gemeinsame Elektrodenanordnung (7) aufweisen.

20

2. Mikrofluidisches System nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** die gemeinsame Elektrodenanordnung zusätzlich eine dritte Manipulationseinrichtung bildet.

25

3. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die gemeinsame Elektrodenanordnung (7) mindestens eine Elektrode aufweist, die sowohl Bestandteil der ersten Manipulationseinrichtung als auch Bestandteil der zweiten Manipulationseinrichtung ist.

30

4. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die erste Manipulationseinrichtung ein Feldkäfig ist, der die Partikel (2) fixiert.

5. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die zweite Manipulationseinrichtung eine Partikelweiche ist.

5

6. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die zweite oder die dritte Manipulationseinrichtung eine Zentriereinrichtung ist, welche die Partikel in dem Trägerstromkanal zentriert.

10

7. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Trägerstromkanal (1) in einem Verzweigungsbereich in mehrere Ausgangsleitungen (5, 6) verzweigt.

15

8. Mikrofluidisches System nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** die gemeinsame Elektrodenanordnung (7) in dem Verzweigungsbereich angeordnet ist.

20

9. Mikrofluidisches System nach Anspruch 7 oder 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** in dem Trägerstromkanal eine Trennlinie (14) verläuft, wobei die auf der einen Seite der Trennlinie (14) befindlichen Partikel (15) ohne eine Ansteuerung der Partikelweiche (7) in die eine Ausgangsleitung (5) strömen, während die auf der anderen Seite der Trennlinie (14) befindlichen Partikel (16) ohne eine Ansteuerung der Partikelweiche (7) in die andere Ausgangsleitung (6) strömen.

25

10. Mikrofluidisches System nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Partikelweiche (7) im Wesentlichen auf der Trennlinie (14) angeordnet ist.

30

11. Mikrofluidisches System nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Partikelweiche seitlich neben der Trennlinie angeordnet ist.

5 12. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** neben dem Trägerstromkanal (30) mindestens ein Nebenstromkanal (31, 32) verläuft, der von dem Trägerstromkanal (30) durch eine Trennwand (33, 34) getrennt ist, wobei sich in der Trennwand (33, 34)
10 ein Durchbruch befindet, in dem die Partikelweiche (39-42) angeordnet ist.

13. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Elektrodenanordnung (7) mindestens eine pfeilförmige Elektrode (13) und mehrere Ablenkelektroden aufweist, wobei die pfeilförmige Elektrode (13) entgegen der Strömungsrichtung des Trägerstroms ausgerichtet ist, während die Ablenkelektroden stromaufwärts vor der pfeilförmigen Elektrode (13) angeordnet sind und an
15 die pfeilförmige Elektrode (13) angrenzen.
20

14. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Elektrodenanordnung (7) vier, sechs oder acht getrennt ansteuerbare Elektroden aufweist.
25

15. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Feldkäfig acht Elektroden (44-47) aufweist, während die Zentriereinheit (48, 49) vier Elektroden aufweist, wobei die vier stromaufwärts gelegenen Elektroden (45, 46) des Feldkäfigs elektrisch mit jeweils einer der Elektroden (48, 49) der Zentriereinheit verbunden sind.
30

16. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch** eine erste Messstation (8), welche die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel (2) stromaufwärts vor der gemeinsamen Elektrodenanordnung (7) im strömenden Zustand untersucht.

17. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch** eine zweite Messstation (9), welche die in dem Feldkäfig fixierten Partikel (2) untersucht.

18. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch** eine Steuereinheit zur Ansteuerung der gemeinsamen Elektrodenanordnung, wobei die Steuereinheit eingangsseitig mit der ersten Messstation und/oder der zweiten Messstation verbunden ist und die gemeinsame Elektrodenanordnung in Abhängigkeit von der Untersuchung in der ersten Messstation und/oder der zweiten Messstation ansteuert.

19. Partikelsortierer mit einem mikrofluidischen System nach einem der vorhergehenden Ansprüche.

20. Ansteuerungsverfahren für eine Elektrodenanordnung (7), die in einem Trägerstromkanal (1) eines mikrofluidischen Systems angeordnet ist, wobei in dem Trägerstromkanal (1) ein Trägerstrom mit darin suspendierten Partikeln (2) strömt, während die Elektrodenanordnung (7) so elektrisch angesteuert wird, dass die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel (2) von der Elektrodenanordnung (7) einer ersten Manipulation unterzogen werden, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Elektrodenanordnung (7) wahlweise zur Durchführung der ersten Manipula-

tion an den Partikeln (2) oder zur Durchführung einer zweiten Manipulation an den Partikeln (2) angesteuert wird.

5 21. Ansteuerungsverfahren nach Anspruch 20, **dadurch gekennzeichnet, dass** die erste Manipulation eine Fixierung der suspendierten Partikel (2) umfasst, während die zweite Manipulation eine Sortierung der suspendierten Partikel (2) umfasst.

10 22. Ansteuerungsverfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 21, **dadurch gekennzeichnet, dass** die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel (2) untersucht werden.

15 23. Ansteuerungsverfahren nach Anspruch 22, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Elektrodenanordnung (7) in Abhängigkeit von der Untersuchung der Partikel (2) zur Durchführung der ersten Manipulation und/oder der zweiten Manipulation angesteuert wird.

* * * * *

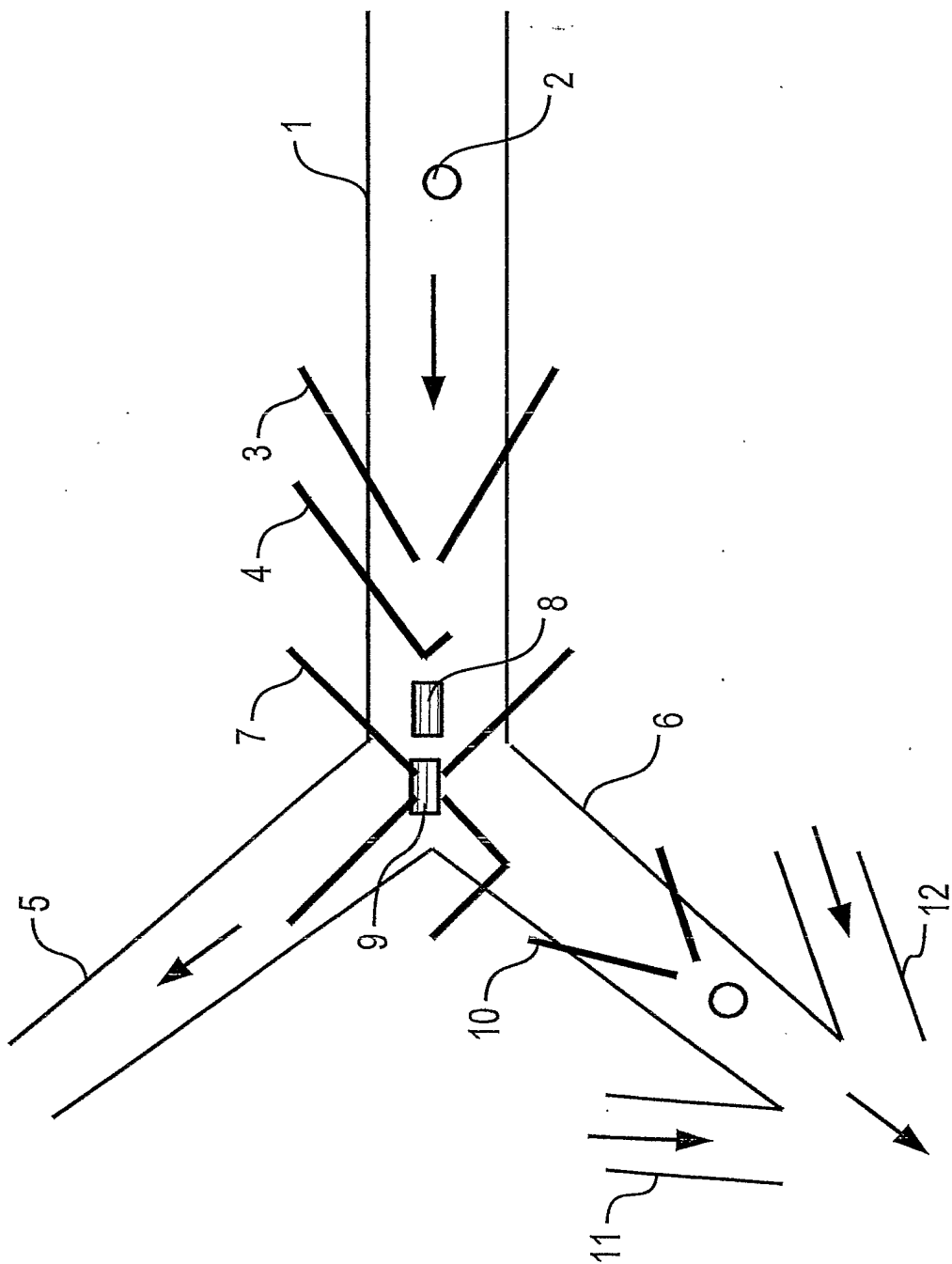
Mikrofluidisches System mit einer Elektrodenanordnung und zugehöriges Ansteuerungsverfahren

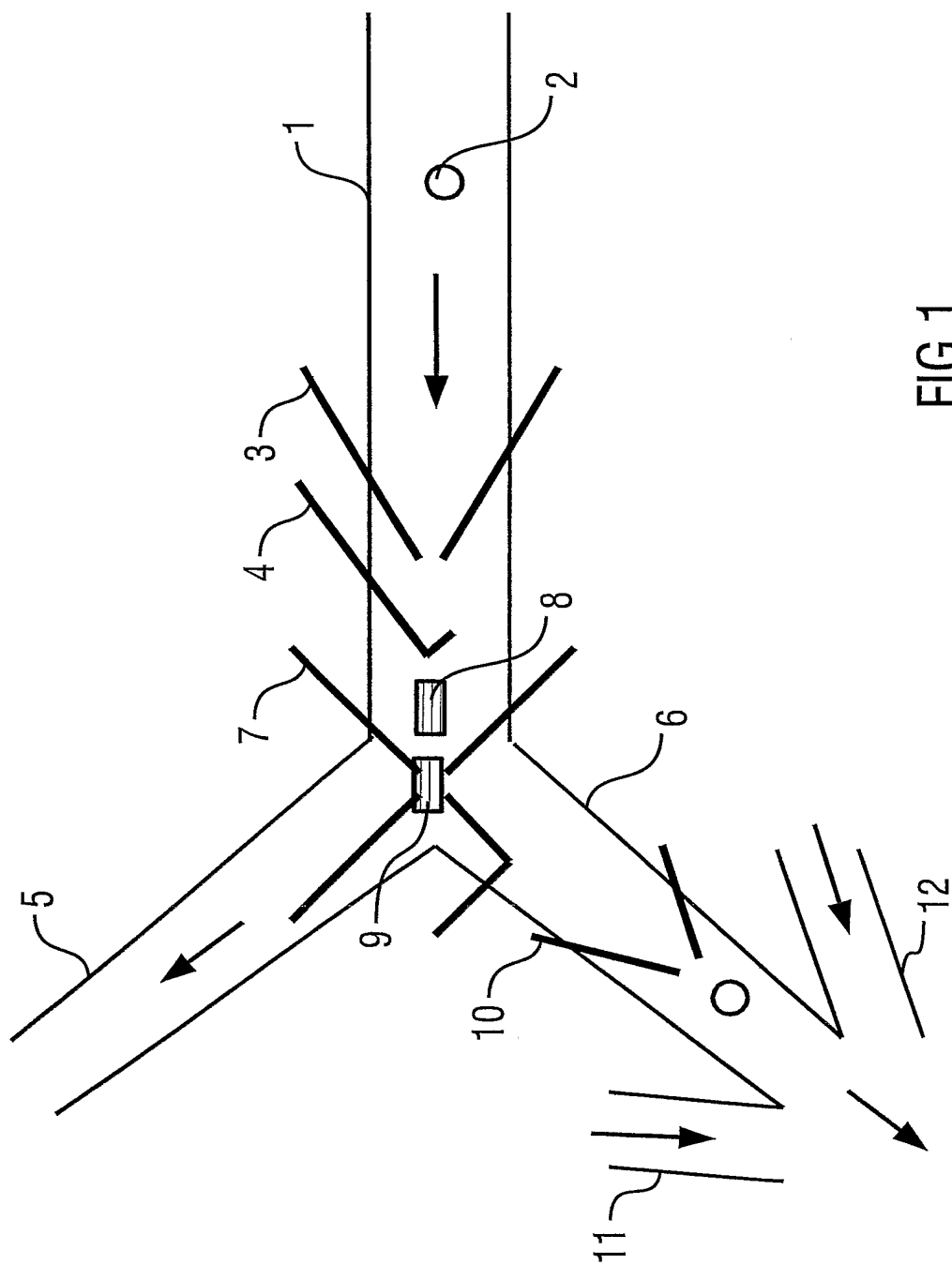
5

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein mikrofluidisches System, insbesondere in einem Zellsortierer, mit einem Trägerstromkanal (1) zur Zuführung eines Trägerstroms mit darin suspendierten Partikeln (2), einer in dem Trägerstromkanal (1) angeordneten ersten Manipulationseinrichtung zur Manipulation der in dem Trägerstrom suspendierten Partikel (2) sowie mit einer in dem Trägerstromkanal (1) angeordneten zweiten Manipulationseinrichtung zur Manipulation der in dem Trägerstrom suspendierten Partikel (2). Es wird vorgeschlagen, dass die erste Manipulationseinrichtung und die zweite Manipulationseinrichtung eine gemeinsame Elektrodenanordnung (7) aufweisen.

20 (Figur 1)





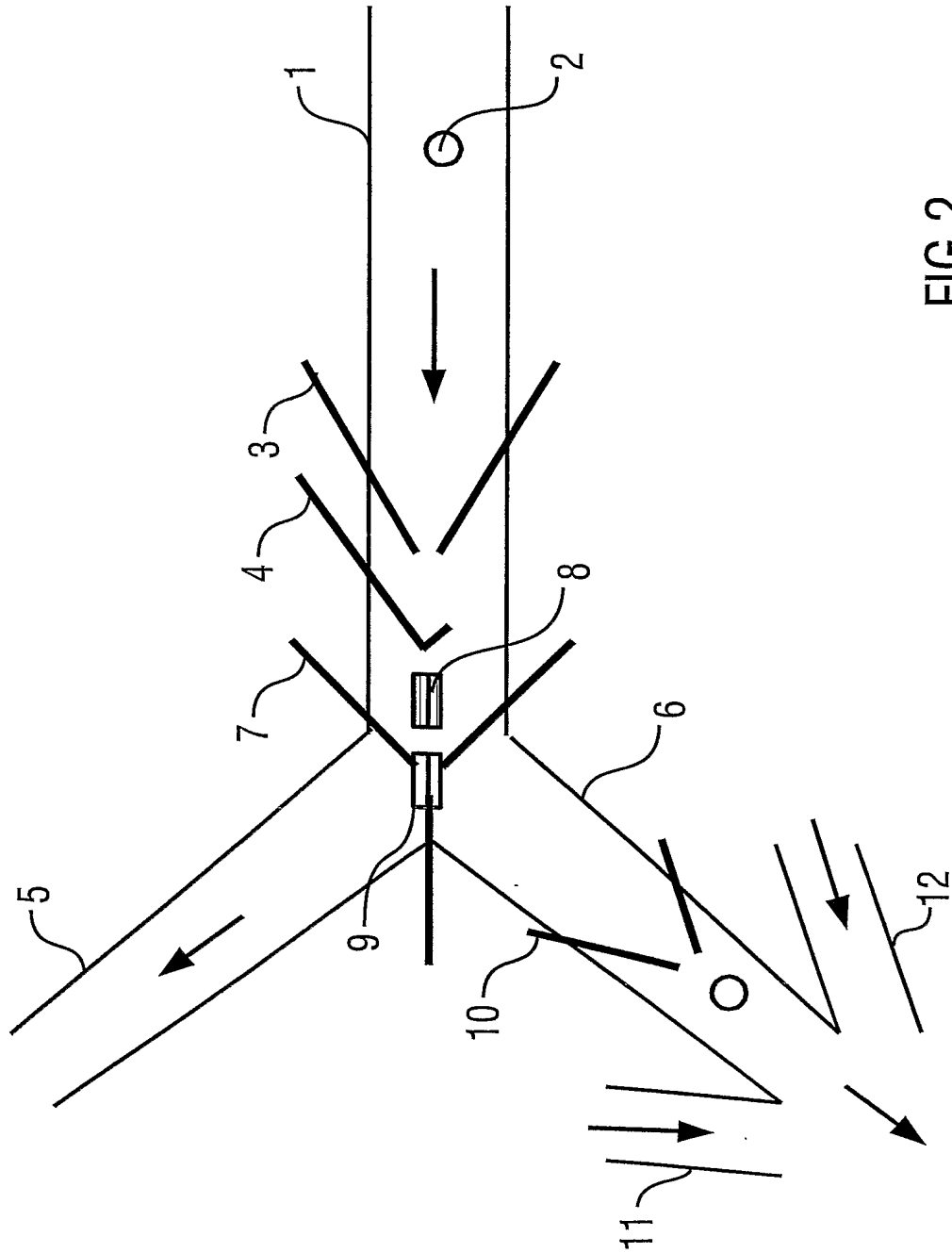


FIG 2

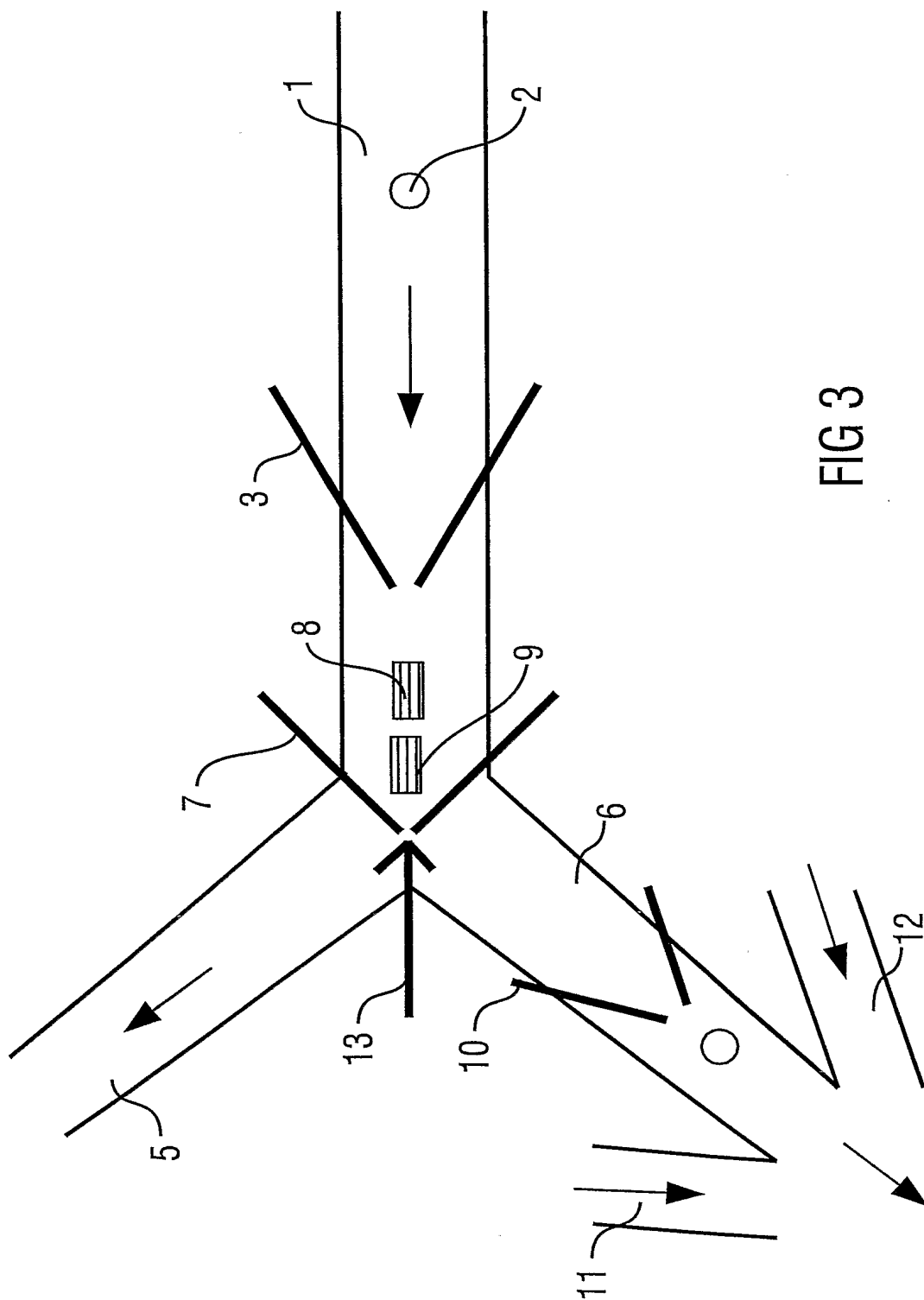


FIG 3

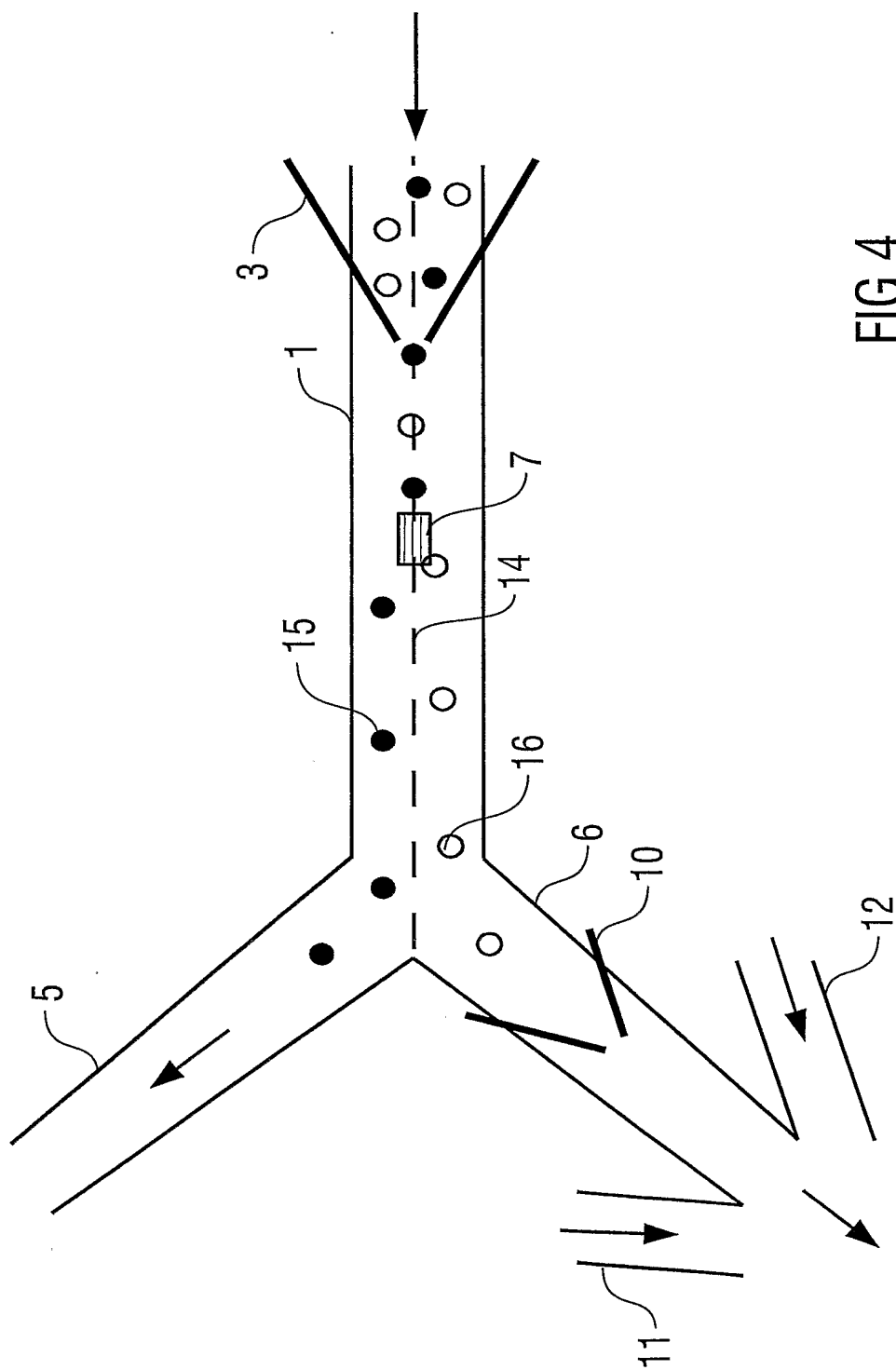


FIG 4

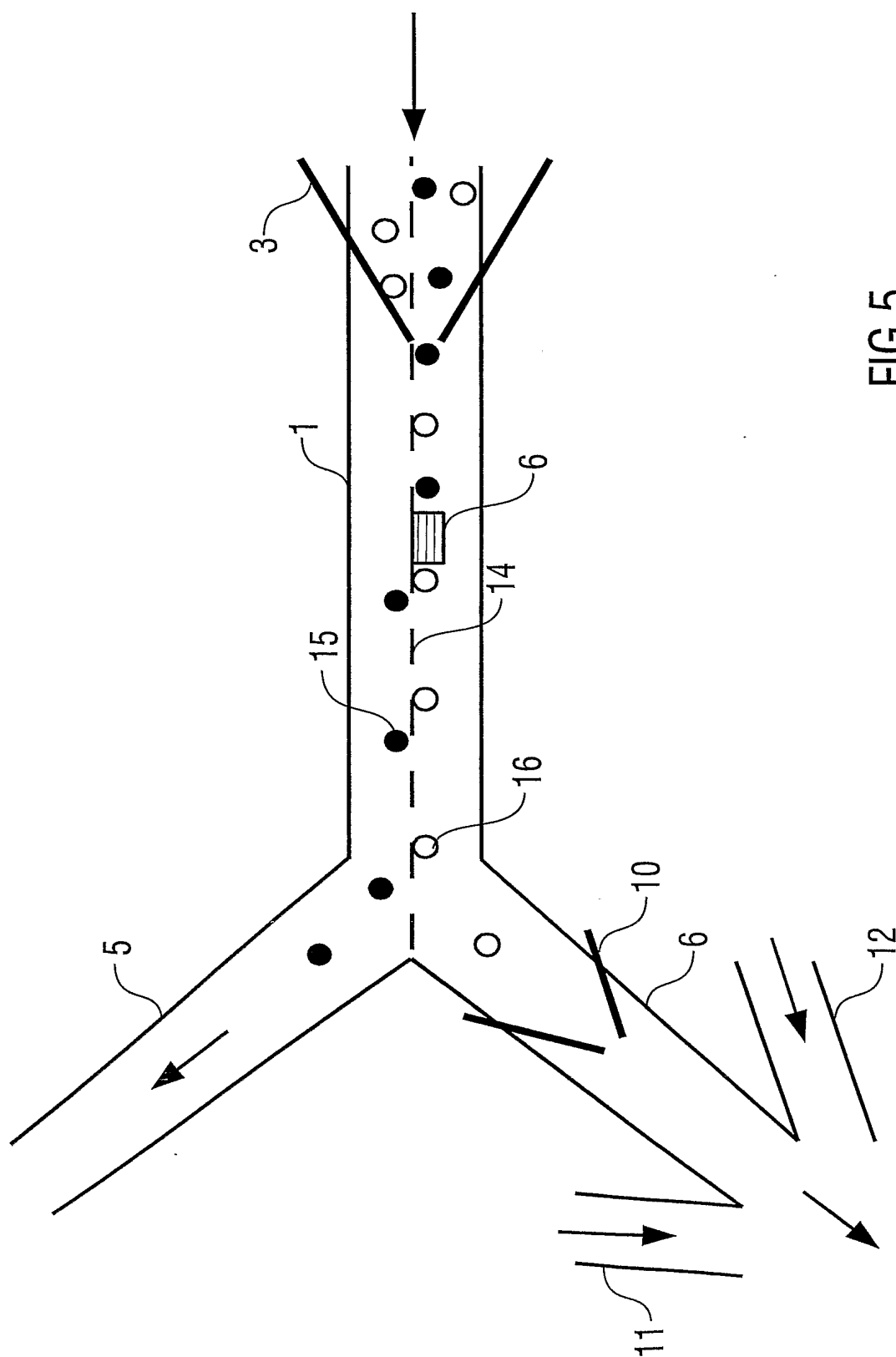


FIG 5

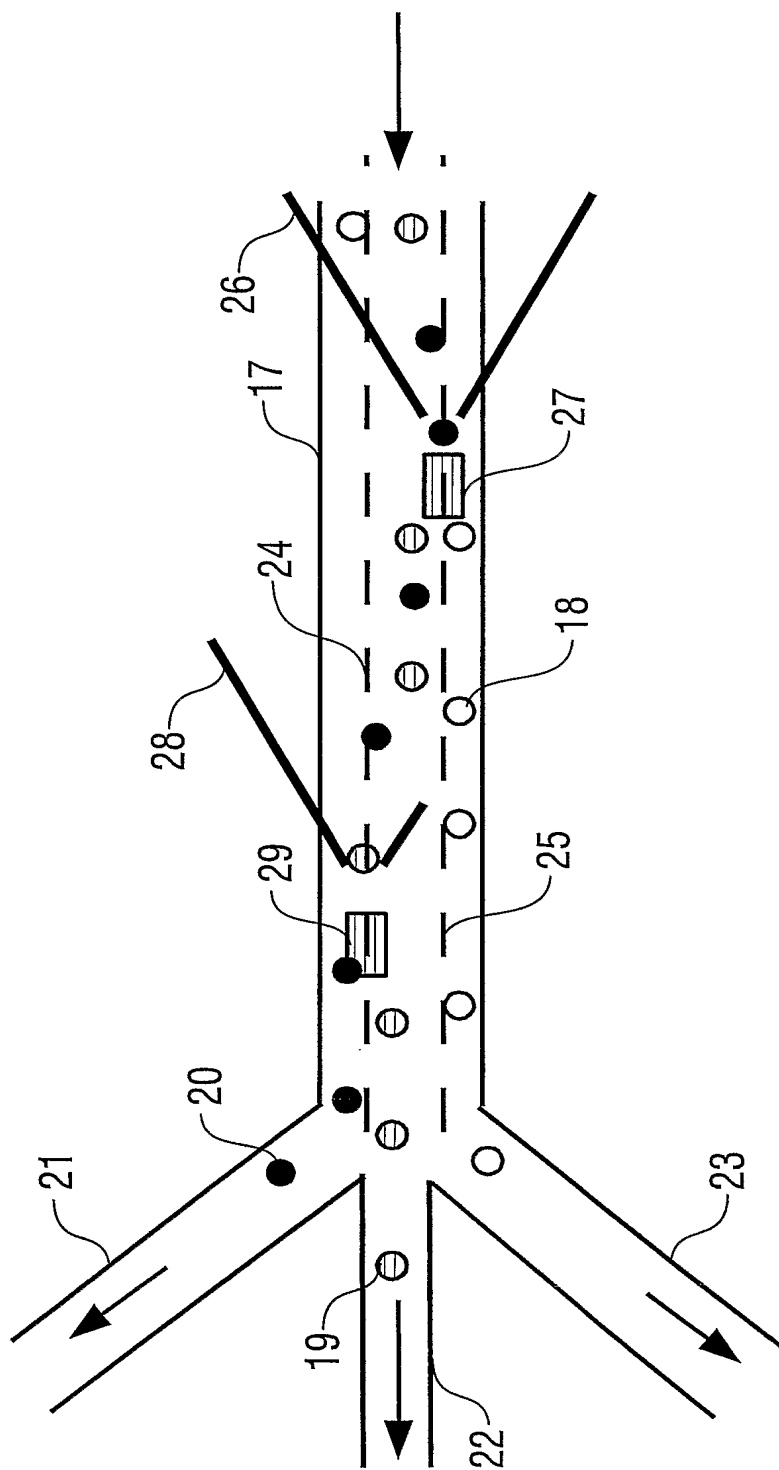


FIG 6

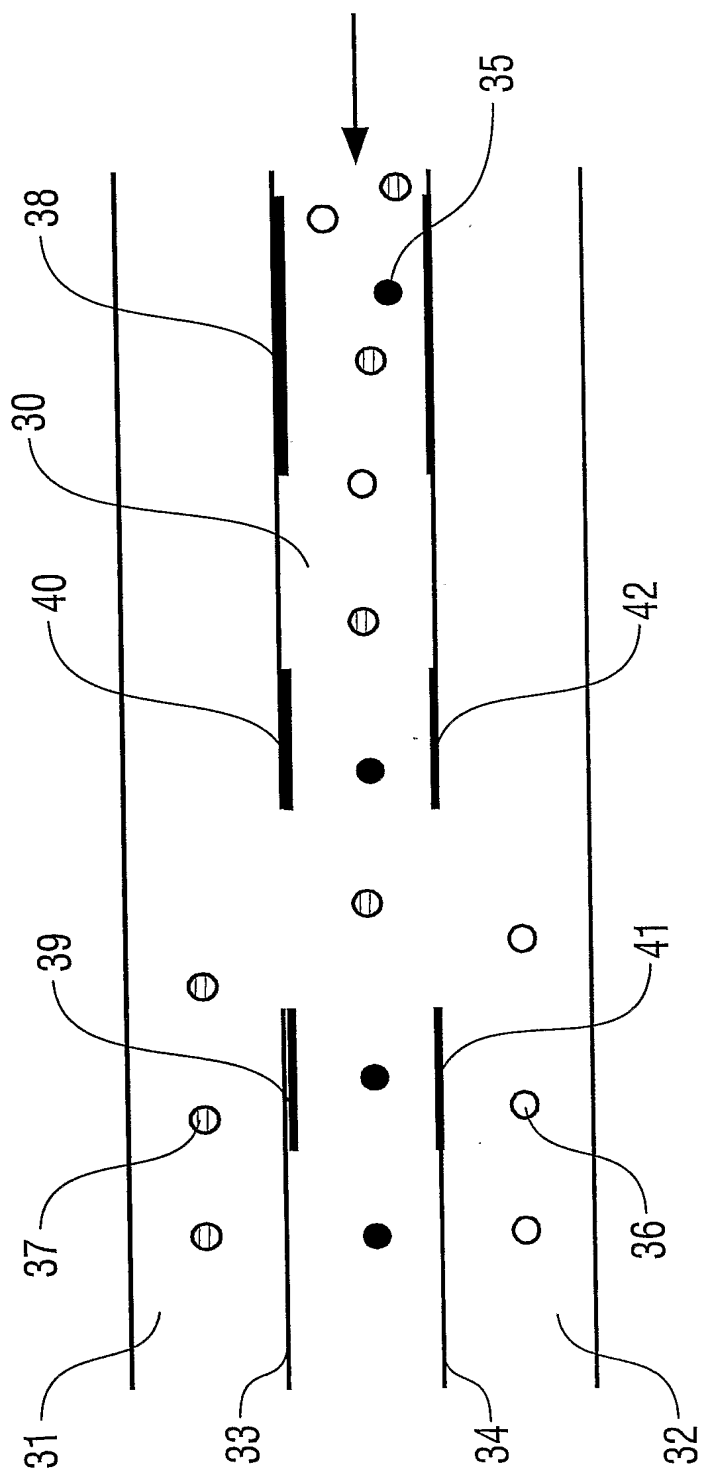


FIG 7

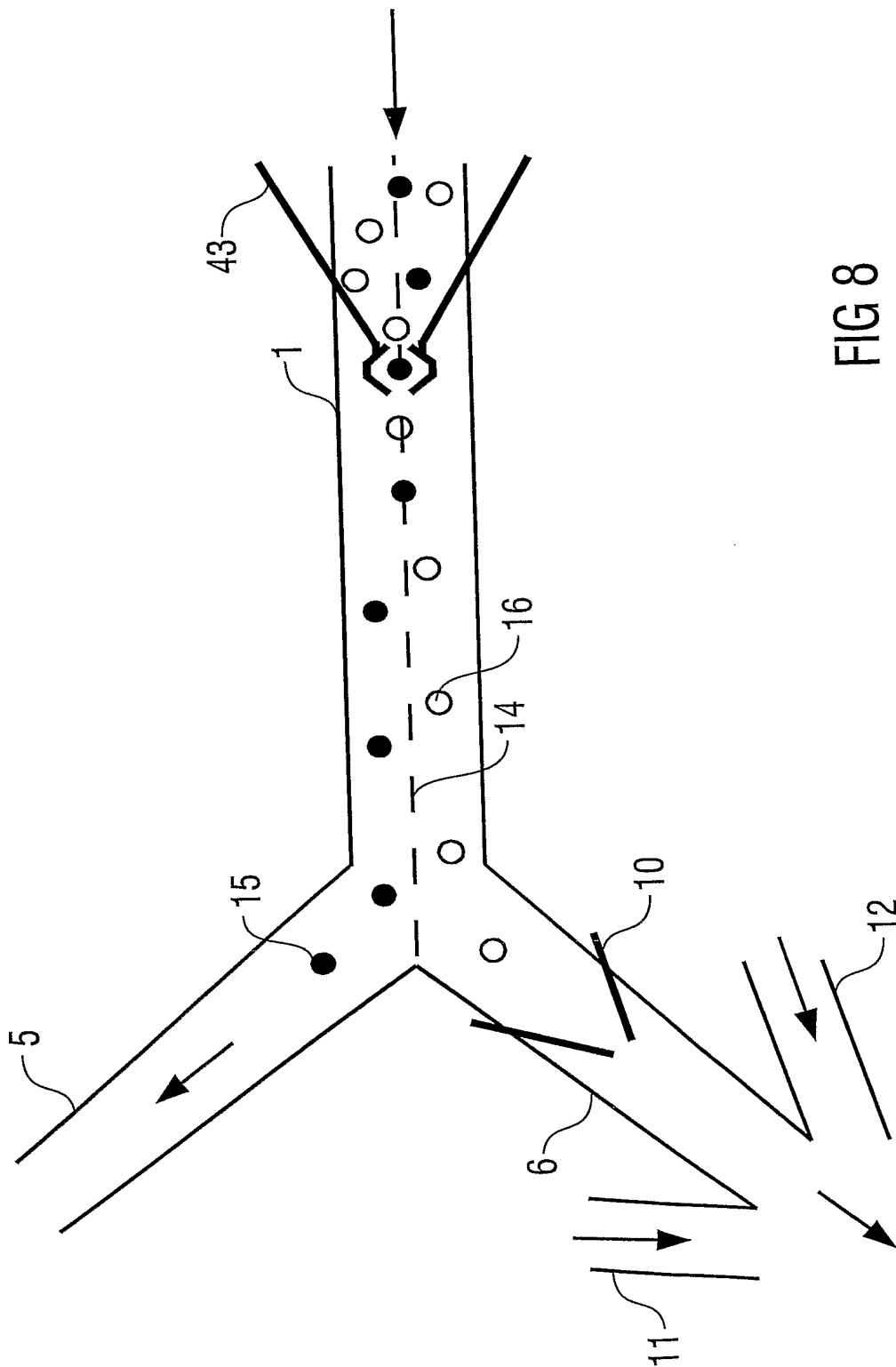


FIG 8

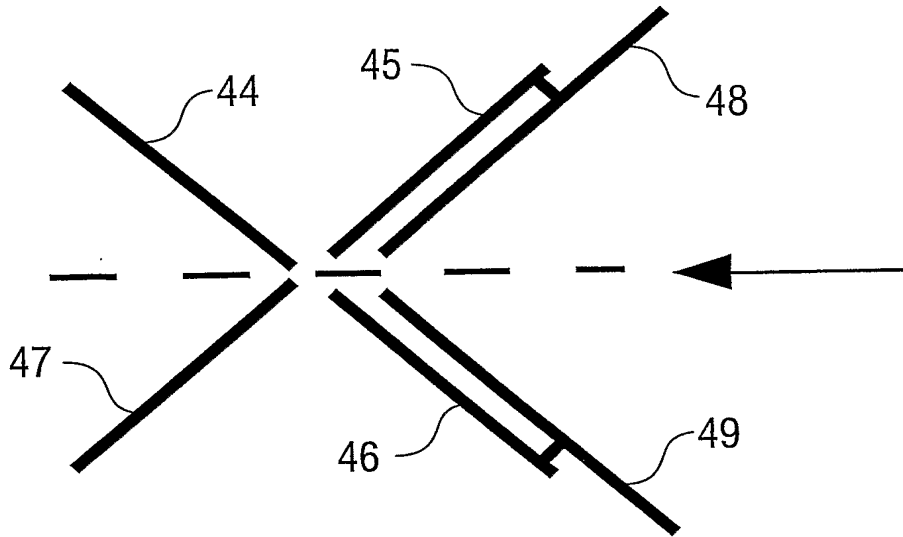


FIG 9

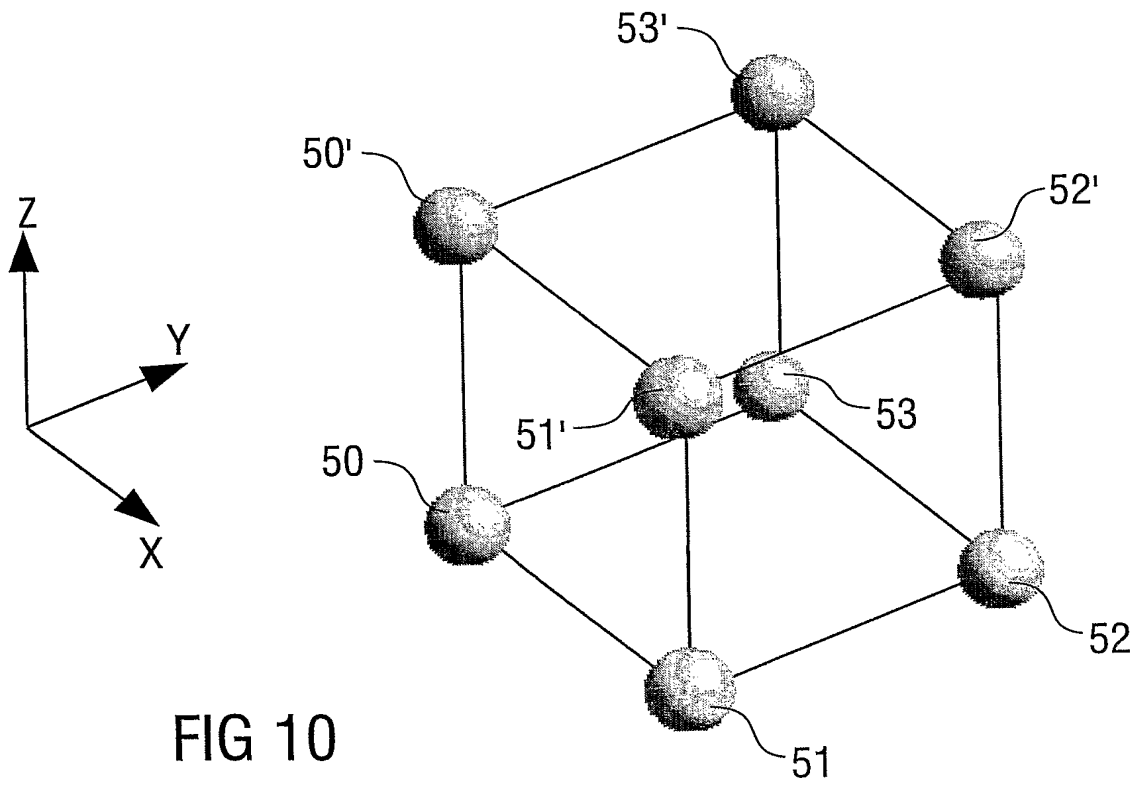


FIG 10

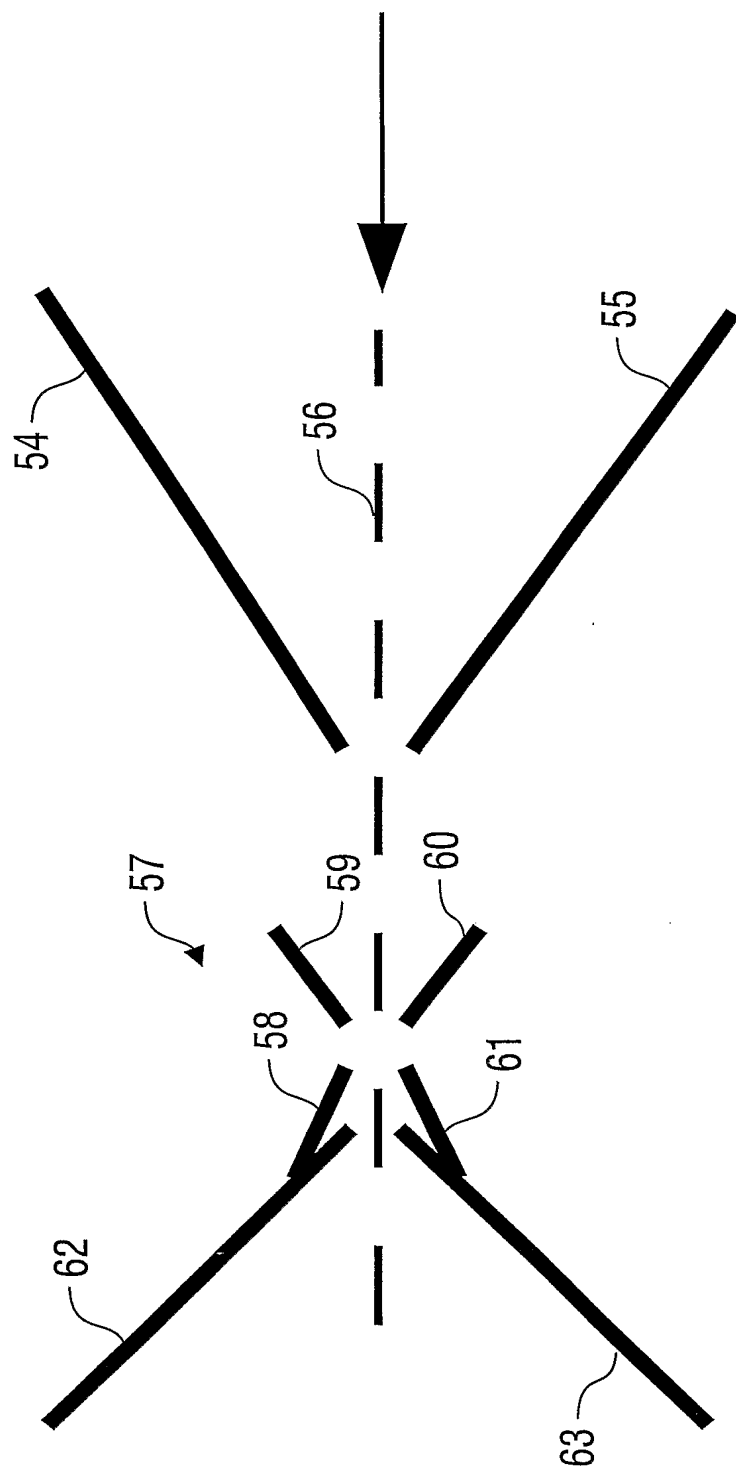


FIG 11